مجله به‌زراعی نهال و بذر
جلد ۲-۳۲، شماره ۱، سال ۱۳۹۵

مقاله کوتاه علمی

Scientific Short Article

تاثیر نحوه کاربرد کلشی‌سین بر صفات زایشی گل همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.)

The Effect of Colchicine Application Method on Reproductive Traits of Pot Marigold (*Calendula officinalis* L.)

سکینه علوی‌پور[۱]، مهرانگیز چهرازی[۲] و اسماعیل خالقی[۳]

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادیار و استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران، اهواز

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۶/۲۹ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۴/۱۱/۲۹

علوی‌پور س.، چهرازی ، م. و خالقی، ا. ۱۳۹۵. تاثیر نحوه کاربرد کلشی‌سین بر صفات زایشی گل همیشه بهار(*Calendula officinalis* L.). **مجله به‌زراعی نهال و بذر ۲-۳۲:** ۱۲۲ - ۱۱۹.

همیشه بهار با نام علمی *Calendula officinalis* L. گیاهی علفی و یک ساله و متعلق به خانواده Asteraceae است. این گیاه علاوه بر استفاده زینتی به علت دارا بودن مونوترپن و سزکوییترپن‌ها در اسانس، به عنوان یکی از گیاهان دارویی بسیار مهم شناخته شده است (Khalid and Silva, 2010). در تحقیقات متعددی از مواد شیمیایی جهش‌زای مختلفی مانند کلشی‌سین، 2,4-D، اتیدیوم بروماید (Vatavu *et al.*, 2006) و موتاژن‌های فیزیکی نظیر اشعه گاما بر گل همیشه بهار استفاده شده است (Tiwari and Kumar, 2011)، ولی در هیچ یک از گزارش‌ها به تاثیر عوامل جهش‌زابر ویژگی‌های اپی‌ژنتیکی گیاه از جمله گل و مرحله زایشی گل همیشه بهار اشاره‌ای نشده است. در این پژوهش به منظور بررسی تاثیر نحوه اعمال تیمار کلشی‌سین بر دو ژنوتیپ گل زرد و نارنجی همیشه بهار، آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. در این آزمایش از دو روش غوطه‌وری بذر و اسپری در مرحله دو برگ حقیقی با غلظت‌های مختلف ۰، ۰/۰۲، ۰/۰۴ و ۰/۰۶ درصد کلشی‌سین استفاده شد. در مرحله

نویسنده مسئول: chehrazi.m@scu.ac.ir تلفن: ۰۹۱۶۳۱۳۰۷۹۶

تشکیل گل، مطالعات فلوسایتومتری (Ghanavati and Eskandary, 2011) و بررسی ویژگی‌های زایشی انجام شد. درصد القاء پلی‌پلوئیدی با توجه به مطالعات فلوسایتومتری حاکی از تاثیر معنی‌دار غلظت و نحوه اعمال تیمار کلشی‌سین بود و با افزایش غلظت کلشی‌سین، درصد القاء پلی‌پلوئیدی نیز افزایش پیدا کرد. این در حالی بود که در دو نوع روش اعمال تیمار بذری به مدت ۴۸ ساعت و اسپری در مرحله دو برگ حقیقی نیز تفاوت قابل ملاحظه‌ای مشاهده شد. با توجه به جدول ۱ اسپری در مرحله دو برگ حقیقی به صورت معنی‌داری نسبت به غوطه‌وری بذری به مدت ۴۸ ساعت بر شاخص القاء پلی‌پلوئید موثر بود و اسپری در مرحله دوبرگ حقیقی و غلظت ۰/۰۶ درصد بالاترین درصد القاء پلی‌پلوئید را در هر دو ژنوتیپ گل زرد و نارنجی نشان داد. به طور کلی این بررسی نشان داد که تیمار کلشی‌سین بر القاء پلی‌پلوئیدی درگل همیشه بهار موثر نبود، اما موجب تغییرات قابل توجهی در فاز زایشی گل همیشه بهار شد (جدول ۲). تیمار غوطه‌وری بذر به مدت ۴۸ ساعت باعث افزایش طول و عرض جوانه کاپیتول گل، قطر کاپیتول گل و طول گلچه‌های حاشیه‌ای نسبت به گیاهان شاهد شد، اما صفاتی همچون تعداد گلچه‌های لوله‌ای و ارتفاع گیاه کاهش معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ یافتند.

تفاوت معنی‌داری از نظر عرض گلچه‌های حاشیه‌ای بین تیمار غوطه‌وری بذر به مدت ۴۸ ساعت و تیمار شاهد وجود نداشت. مطالعات فلوسایتومتری گیاهان تیمار بذری و شاهد نیز عدم القاء پلی‌پلوئیدی را نشان دادند. مقایسه گیاهان تیمار شده در روش اسپری در مرحله دو برگ حقیقی و گیاهان شاهد (جدول ۲) نشان داد که طول و عرض جوانه کاپیتول گل، قطر کاپیتول گل و طول گلچه‌های حاشیه‌ای به طور معنی‌داری درسطح احتمال ۵٪ کاهش یافتند اما تعداد گلچه‌های لوله‌ای و ارتفاع گیاه افزایش معنی‌داری را درسطح ۵٪ نشان دادند. از طرفی در صفاتی همچون عرض گلچه‌های حاشیه‌ای و تعداد گلچه‌های حاشیه‌ای تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در تجزیه و تحلیل‌های فلوسایتومتری مشخص شد که اعمال کلشی‌سین در روش اسپری برگی باعث القاء پلی‌پلوئید شده بود ولی بررسی‌های ظاهری گیاه این تغییرات را نشان نداد. مدلوگه و وندل (Medluge and Wendel, 2013) نیز در گزارش‌های خود بیان کردند که القاء پلی‌پلوئیدی علی‌رغم ایجاد تغییرات در سیتوژنتیک گیاهی و ساختار ژنومی، بر رونویسی نیز موثر است. به خصوص، پلی‌پلوئیداسیون در ارتباط با کاهش توالی، تغییر درصفات اپی‌ژنتیک همچون متیلاسیون سیتوزین، فعالیت ترانسپوزوم‌ها و بازترکیبی بین کروموزوم‌های همولوگ نیز هست. به طور کلی، اگرچه کلشی‌سین به عنوان یکی از عوامل شیمیایی جهش‌زا تاثیر قابل توجهی بر دو برابر شدن کروموزوم‌ها دارد و منجر به تغییرات

جدول ۱- مقایسه میانگین درصد القای پلی‌پلوئیدی در دو ژنوتیپ گل همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) توسط غلظت‌های مختلف کلشی‌سین با دو روش اعمال تیمار

Table 1. Mean comparison of polyploidy induction percentage in two genotypes of pot marigold (*Calendula offinalis* L.) by different concentrations of colchicine with two treatment application methods

روش اعمال تیمار Treatment application method	غلظت کلشی‌سین Colchicine concentration (%)	ژنوتیپ گل زرد Yellow flower genotype	ژنوتیپ گل نارنجی Orange flower genotype
غوطه‌وری بذر به مدت ۴۸ ساعت Seed immersion for 48 hours	0.02	0 f	0 f
	0.04	3.20±0.11[†] d	3.50±0.22 d
	0.06	4.45±0.45 d	4.51±0.65 d
اسپری در مرحله دو برگ حقیقی Foliar in two true leaves	0.02	30.45±1.48 c	34.01±3.33 c
	0.04	42.73±3.39 b	46.71±4.05 b
	0.06	60.06±6.87 a	58.00±3.00a

Mean ± Standard error

میانگین ± خطای استاندارد

حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

Similar letters in each column indicate not significant difference at the 5% level of probability.

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات زایشی دو ژنوتیپ گل زرد و نارنجی همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) در روش‌های اعمال تیمار کلشی‌سین

Table 2. Mean comparison of reproductive traits of two yellow and orange flower genotypes of pot marigold (*Calendula officinalis* L.) in colchicin application methods

		عدم تیمار کلشی‌سین (شاهد) No Colchicine application (Control)		غوطه‌وری بذر به مدت ۴۸ ساعت Seed immersion for 48 hours		اسپری در مرحله دو برگ حقیقی Foliar spray in two true leaves	
Reproduction traits	صفت زایشی	ژنوتیپ گل زرد Yellow flower genotype	ژنوتیپ گل نارنجی Orange flowe r genotype	ژنوتیپ گل زرد Yellow flower genotype	ژنوتیپ گل نارنجی Orange flowe r genotype	ژنوتیپ گل زرد Yellow flower genotype	ژنوتیپ گل نارنجی Orange flowe r genotype
Length of flower capitol bud(mm)	طول جوانه کاپیتول گل	7.48±0.24[†] b	9.83±0.46 a	10.15±0.35 a	8.70±0.53 ab	8.21±0.14 b	8.14±0.18 b
Width of flower capitol bud(mm)	عرض جوانه کاپیتول گل	12.04±0.65 b	12.29±0.47 a	19.52±1.17 a	13.19±0.61 b	8.47±0.14 c	8.86±0.12 c
Flower capitol diameter (mm)	قطر کاپیتول گل	43.08±3.67 b	44.77±1.45 b	61.96±3.04 a	60.28±1.02 a	24.53±0.25 c	63.53±3.69 c
Ligulate floret length(mm)	طول گلچه حاشیه‌ای	13.96±0.79 b	12.64±0.64 bc	18.68±0.64 a	20.18±1.09 a	6.69±0.61 c	9.60±0.33 c
Ligulate floret width(mm)	عرض گلچه حاشیه‌ای	4.30±0.31 b	4.77±0.28 ab	5.51±0.44 a	5.39±0.35 a	4.12±0.16 b	4.06±0.10 b
Ligulate floret number	تعداد گلچه حاشیه‌ای	44.50±0.56 b	39.17±1.19 b	150.67±2.73 a	144.67±2.91 a	40.50±1.23 b	40.83±1.45 b
Tubular floret number	تعداد گلچه لوله‌ای	88.17±2.18 b	86.5±1.38 b	19.5±2.79 c	27.67±1.26 c	117.83±3.69 a	126.17±3.86 a
Plant height (cm)	ارتفاع گیاه	21.98±1.28 b	23.39±1.34 b	15.78±0.75 c	12.52±0.55 c	31.50±1.49 a	31.07±0.78 a

Mean ± Standard error

میانگین ± خطای استاندارد

حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

Similar letters in each column indicate not significant difference at the 5% level of probability.

بسـیاری در گیـاه مـی‌شـود امـا یافتـه‌هـای ایـن پژوهش نشان‌دهنده آن بـود کـه توجـه بـه تـاثیر کلشی‌سین بر تغییـرات ژنـومی و سـایر تغییراتـی که موجب ایجـاد تنـوع در بیـان ژن و در نتیجـه تنوع در ویژگی‌های اپی‌ژنتیکی و مورفولوژیکی گیاه می شود، بسیار حائز اهمیت است. ایـن در حالی است که با توجه به ارزش زینتی و دارویی گل همیشه بهـار و بـا توجـه بـه پرپـر شـدن گـل بـدون تغییـر در سـطح پلوئیـدی بایـد از نظـر مولکـولی مـورد بررسـی بیشـتری قـرار گیـرد.

واژه‌های کلیدی: گل همیشه بهار، ژنوتیپ، فاز زایشی، درصد القاء پلی‌پلوئیدی، دانه گرده.

References

Ghanavati, F., and Eskandary, H. 2011. Relationship between the chloroplast number in stomatal guard cells, flow cytometry and ploidy level in *Onobrychis* spp. Seed and Plant Improvement Journal 27-1: 427-439 (in Persian).

Khalida, K. A., and Silva, J. A. 2010. Yield, essential oil and pigment content of *Calendula officinalis* L. flower heads cultivated under salt stress conditions. Scientia Horticulturae 126: 297-305.

Medluge. A., and Wendel, J. F. 2013. Genetic and epigenetic aspects of polyploidy evolution in plants. Cytogenetic and Genome Research 140: 270-285.

Tiwari, H. K., and Kumar, V. 2011. Gamma-rays induced morphological changes in pot marigold (*Calendula officinalis* L.). Progressive Agriculture 11(1): 99-102.

Vatavu, R., Leonte, C., Robu, T., and Pascal-slabu, C. 2006. Studies concerning the influence of some mutagen agents on the production of inflorescences at *Calendula officinalis*L. species. Lucrari Stiintifice 51: 41-46.